

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(6)

(11)Publication number : 07-267898

(43)Date of publication of application : 17.10.1995

(51)Int.Cl.

C07C 69/587

A23L 1/30

C07C 67/02

C11C 3/00

C11C 3/10

(21)Application number : 07-042787

(71)Applicant : NISSHIN FLOUR MILLING CO LTD
TSUKISHIMA SHOKUHIN KOGYO KK

(22)Date of filing : 02.03.1995

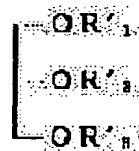
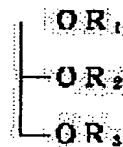
(72)Inventor : AKIYAMA HIROSHI
SHOJI SHIGERU

(54) GLYCERIDE OF DOCOSAHEXAENOIC ACID

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a new compound having high content of docosahexaenoic acid, capable of reducing an amount used also in the case added to foods, etc. and free from lowering of taste of foods.

CONSTITUTION: A compound of formula I [R1 to R3 are each docosahexaenoyl or a 2-4C fatty acid acyl, with the proviso that at least one of R1 to R3 is docosahexaenoyl], e.g. 1-docosahexaenoyl-2,3-diacetyl-glycerin. The compound of formula I is obtained by subjecting a glyceride of formula II (R1' to R3' each is a 2-4C fatty acid acyl) to transesterification with a lower alkylester of docosahexaenoic acid.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 02.03.1995

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 2562009

[Date of registration] 19.09.1996

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **07267898 A**(43) Date of publication of application: **17 . 10 . 95**

(51) Int. Cl.

C07C 69/587**A23L 1/30****C07C 67/02****C11C 3/00****C11C 3/10**(21) Application number: **07042787**(22) Date of filing: **02 . 03 . 95**(62) Division of application: **61023954**

(71) Applicant:

**NISSHIN FLOUR MILLING CO LTD
TSUKISHIMA SHOKUHIN KOGYO
KK**

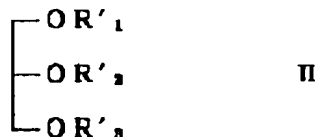
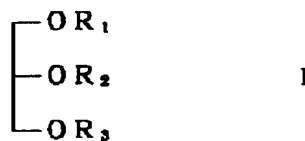
(72) Inventor:

**AKIYAMA HIROSHI
SHOJI SHIGERU****(54) GLYCERIDE OF DOCOSAHEXAENOIC ACID****(57) Abstract:**

PURPOSE: To obtain a new compound having high content of docosahexaenoic acid, capable of reducing an amount used also in the case added to foods, etc. and free from lowering of taste of foods.

CONSTITUTION: A compound of formula I [R_1 to R_3 are each docosahexaenoyl or a 2-4C fatty acid acyl, with the proviso that at least one of R_1 to R_3 is docosahexaenoyl), e.g. 1-docosahexaenoyl-2,3-diacetylglycerin. The compound of formula I is obtained by subjecting a glyceride of formula II (R'_1 to R'_3 each is a 2-4C fatty acid acyl) to transesterification with a lower alkylester of docosahexaenoic acid.

COPYRIGHT: (C)1995,JPO



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-267898

(43) 公開日 平成7年(1995)10月17日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 C 69/587		9279-4H		
A 2 3 L 1/30	A			
C 0 7 C 67/02				
C 1 1 C 3/00				
3/10				

審査請求 有 発明の数 1 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号	特願平7-42787
(62) 分割の表示	特願昭61-23954の分割
(22) 出願日	昭和61年(1986)2月7日

(71) 出願人	000226998 日清製粉株式会社 東京都中央区日本橋小網町19番12号
(71) 出願人	000165284 月島食品工業株式会社 東京都江戸川区東葛西3丁目17番9号
(72) 発明者	秋山 洋 埼玉県入間郡鶴ヶ島町大字藤金字後谷803番地73
(72) 発明者	東海林 茂 東京都葛飾区西水元4丁目4番10号
(74) 代理人	弁理士 高木 千嘉 (外2名)

(54) 【発明の名称】 ドコサヘキサエン酸のグリセリド

(57) 【要約】

【目的】 ドコサヘキサエン酸 (DHA) は成人病の予防に有効であるので、医薬品、栄養補助食品への応用が拡大されてきた。しかしDHAの吸収はそのグリセリド形が有利であるとされているので、DHAの含有量が30%以上、特にDHAのみが結合しているグリセリドを提供する。

【構成】 本発明はDHAのアシル基のみ、またはそれが少なくとも一つ、他は低級脂肪酸のアシル基であるグリセリドに関する。

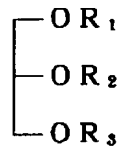
【効果】 本発明のグリセリドはDHAの含有量が高いので、食品等に添加する場合にも使用量を減ずることができ、食品の風味を低下させることがない。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式

【化1】



(式中、 R_1 、 R_2 および R_3 は同一または異なり、ドコサヘキサエノイル基、または $C_2 \sim C_4$ 脂肪酸のアシル基を示す。但し、 R_1 、 R_2 および R_3 の少なくとも1つはドコサヘキサエノイル基を示すものとする)で示されるドコサヘキサエン酸のグリセリド。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明はドコサヘキサエン酸（以下DHAと略記する）のグリセリンエステル（グリセリド）、その製造法及びそれを含有する油脂製品に関する。DHAは魚油の脂肪酸の1つとして自然界に多く存在する。DHA等の高度不飽和脂肪酸は古くから栄養学上注目されていたが成人病の予防に有効であることからそれについての研究が盛んになり、医薬品、栄養補助食品への応用が拡大されるようになってきた。したがって本発明は医薬品、栄養補助食品として有利に利用できるDHAのグリセリドとその製造法及びそれを含有する油脂製品を提供することを目的とするものである。

【0002】

【従来技術】前述のとおり、DHAは魚油等の脂肪酸成分として自然界に存在するが、各種魚油中のDHA含有量はほぼイワシ油8.5%、イカ油15.8%、アブラカレイ油3.4%、ハゼ油17.4%、マグロ油18.2%、メカジキ油10.0%、タラ肝油7.5%、サメ肝油10.7%程度である（油化学第12巻第5号、278～281頁、1963年）。これら油からDHAが結合したグリセリドを分離、精製する方法としてクロマトグラフィー、溶剤抽出、分子蒸留法等が考えられるが、濃縮法によっては約30%のDHA含有量のものが得られているに過ぎない。一方DHAの消化吸収はそのグリセリド形が有利であるとされているので、DHAの含有量の高いDHAのグリセリドが要望されているが、DHAの含有量30%以上、特にDHAのみが結合しているグリセリドは未だ知られていない。

【0003】

【発明が解決しようとする問題点】既に知られているように魚油は空気中におくだけで自動酸化を起こし栄養価の低下を招き、風味も悪くなる。これは魚油等から濃縮して得られるDHA含有油脂成分も同様であって、この劣化現象はフリーラジカル連鎖反応により進み、油脂中にヒドロペルオキシドが蓄積しその分解生成物が毒性や変敗臭の原因となるためその用途は制限されている。こ

2

のため魚油等から濃縮して得られるDHAのグリセリドは栄養補助食品として注目され、また食品添加物としても考慮されていたがそれらを用いた食品は実用化されていない。

【0004】

【問題点を解決するための手段】そこで油脂以外の不純物を極力低下させ、DHAの含有量の多い、好ましくはDHAのみが結合したグリセリドを得れば、結果的にはDHAグリセリドの使用量を減じることができ、前述した魚油ないしは魚油濃縮物にみられる栄養低下や風味の悪化は低減できるとの発想のもとに、DHAの低級アルキルエステルと低級脂肪酸グリセリドとをエステル交換させたところDHAを高濃度、特にDHAのみを含有するグリセリドを製造することができ、かくして本発明を完成したのである。

【0005】即ち、本発明は式

【化2】



(式中、 R_1 、 R_2 および R_3 は同一または異なり、ドコサヘキサエノイル基、または $C_2 \sim C_4$ 脂肪酸のアシル基を示す。但し、 R_1 、 R_2 および R_3 の少なくとも1つはドコサヘキサエノイル基を示すものとする)で示されるDHAのグリセリドおよびその製法に関する。

【0006】本発明の前記式のDHAのグリセリドは、式

【化3】



(式中、 R'_1 、 R'_2 および R'_3 は同一または異なり、 $C_2 \sim C_4$ の低級脂肪酸のアシル基を表す)で示されるグリセリドとDHAの低級アルキルエステルとをエステル交換反応に付すことによって製造できる。本発明のDHAの低級アルキルエステルは高純度のものが好ましいが、前述したとおりDHAの低級アルキルエステルも不安定であり、劣化しやすいため高純度のものは商業的に入手困難である。したがって、本発明においては、生成物のDHAのグリセリドの用途によっては比較的にDHAの低級アルキルエステルの含有量の低いものも使用できる。本発明では、例えば30%以上のDHAの低級アルキルエステルを含有する粗製の低級アルキルエステルを使用できる。

【0007】また一方の原料である前記式(2)のグリセリドとしてはトリアセチン（酢酸のトリグリセリド）

が好ましい。トリアセチンを用いた場合は副生する低級エステルが例えば酢酸メチルのごとき低沸点成分であるから前記式(1)のDHAのグリセリドから容易に分離できるし、また安価である。さらに本発明の生成物中に未反応のDHAの低級アルキルエステルが残留していてもDHAの低級アルキルエステル自体有害物質でないので必ずしも完全に除去する必要はない。しかしながら粗生成物中に高級脂肪酸成分としてDHAが30%以上含まれていることが本発明の目的からみて必要である。

【0008】本発明の方法および原料のDHAの低級アルキルエステルの製法について以下詳細に説明する。DHAの低級アルキルエステルを調製するには精製イワシ油を低級アルコールとエステル交換反応に付し脂肪酸エステル混合物を得る。脂肪酸エステル混合物は炭素包接化により飽和脂肪酸エステルを除き、DHA含有量を35~40%とした後、蒸留を繰り返し高純度DHAエステルを得る。

【0009】次いで、目的とするDHAのグリセリドは、含窒素強有機塩基(ジアザビシクロウンデセン等)、強塩基性樹脂(アンパリスト A-26[®] オルガノ社)、アルカリ金属アルコール例えばナトリウムメチラートなどの存在下に、低級脂肪酸のグリセリンエステル例えばトリアセチンと高純度DHAの低級アルキルエステルとのエステル交換反応によって調製される。トリアセチンと高純度DHAの低級アルキルエステルとを1:1~5モルの割合で反応器に加え、これらの出発原料量に対し1~5重量%のナトリウムメチラートを加え、加熱、攪拌、減圧下にて反応を進行させる。反応液の温度上昇に伴って低級脂肪酸エステルが生成するので、減圧下留去するなどにより反応系外へ除去することが好ましい。反応温度は60~200℃、好ましくは80~100℃、反応時間は0.5~10時間、好ましくは1~3時間で充分である。低級脂肪酸エステルの生成が認められなくなったら反応混合液に水を加え、反応を停止する。DHAの酸化を防止するため、反応および操作は窒素などの不活性ガス雰囲気で行うことが好ましい。

【0010】次いで反応液を必要ならば酸で中和し、これに水と必要に応じて有機溶媒例えば酢酸エチルを加えて振盪し、二層に分離後、水層を除き、有機層はさらに水洗を行う。次に有機層を分取し、溶媒使用の場合は減圧下に溶媒を留去して淡褐色、透明なDHAを含む油状*

*物を得る。さらに油状物は、薄層クロマトグラフィー、シリカゲルカラムクロマトグラフィーなどにより置換した脂肪酸基の数の違いにより、各々分画される。また分子蒸留法により、沸点差での分離が可能である。例えばシリカゲルカラムクロマトグラフィーでは、酢酸エチル、アセトン等を用いて行う。溶出液は薄層クロマトグラフィーにより確認しながら、各々の画分を集める。

【0011】次に、実施例によって本発明をさらに詳細に説明する。

10 実施例1

常法に従い、濃硫酸触媒により精製イワシ油とエチルアルコールとをエステル交換し、次いで精製を行い、得られた純度87%のドコサヘキサエン酸エチルエステル10.8gとナトリウムメチラート0.2gとを100mlの4つフロラスコに加えて、容器を窒素ガスで置換した。ゆっくり攪拌、加熱を開始し、滴下ロートからトリアセチン2.2gを注入し、アスピレータで減圧状態にした。反応液温の上昇に伴い、生成した酢酸エチルが留出するので、冷却器で凝縮し除去した。オイルバス温80~100℃、反応開始1時間後、オイルバスを反応器から除き、内温を室温付近まで冷却してから酢酸2mlを、次いで酢酸エチルおよび水を加えて振盪、静置すると二層分離するので、上層の酢酸エチル層を分取し、水20mlで3回洗浄後、溶媒を減圧下に留去して9.0gの淡褐色、透明の油状物を得た。次に、φ3cm×30cmのガラス管にシリカゲル(70~230メッシュ、メルク社)55gを懸濁し、充填した。これに上記淡褐色油状物1gを付し、ヘキサン200ml、ヘキサノール(95:5 v/v)1000ml、ヘキサノール(85:15)1000ml、ヘキサノール(70:30)600ml、アセトン200mlで段階溶出を行った。得られた溶出液から減圧下に溶媒を留去して、溶出順に、ドコサヘキサエン酸エチルエステル0.23g、1,2,3-トリドコサヘキサエノイルグリセリン0.61g、2-アセチル-1,3-ジドコサヘキサエノイルグリセリン0.10gおよび1-ドコサヘキサエノール-2,3-ジアセチルグリセリン0.07gを得た。

【0012】グリセリンエステルの赤外線吸収スペクトルおよび核磁気共鳴スペクトルは次のとおりである。

40 1,2,3-トリドコサヘキサエノイルグリセリン

【表1】

5

6

IR (ν cm⁻¹): 2960(s), 2870(s), 1465(m), 1380(m) CH₃
 2920(s), 2850(s), 1470(m) -CH₂-
 1760(s), 1155(s) -CO-O-
 1660(m), 710(m) $\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{C} = \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃, δ):

0.97 (9H, t, CH₃-CH₂-), 1.30 (6H, br, CH₃-CH₂-),
 2.12 (6H, m, CH₂-CH₂-CH=CH-), 2.32 (9H, m, =C-CH₂-CH=CH-),
 2.82 (30H, m, =CH-CH₂-CH=), 4.22 (4H, m, CH₂OCO-DHA),
 5.22 (1H, m, CHOCO-DHA), 5.36 (36H, m, -CH=CH-)

【0013】 2-アセチル-1,3-ジドコサヘキサエノイルグリセリン * 【表2】

IR (ν cm⁻¹): 2960(s), 2870(s), 1460(m), 1380(m) CH₃
 2925(s), 2850(s), 1470(m) -CH₂-
 1760(s), 1150(s) -CO-O-
 1660(m), 710(m) $\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{C} = \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃, δ):

0.97 (6H, t, CH₃-CH₂-), 1.30 (4H, br, CH₃-CH₂-),
 2.05 (3H, s, CH₃- $\overset{\text{O}}{\parallel}$ C-O-), 2.12 (4H, m, CH₂-CH₂-CH=CH-),
 2.32 (4H, m, =C-CH₂-CH=CH-), 2.82 (20H, m, =CH-CH₂-CH=),
 4.22 (4H, m, CH₂OCO-DHA), 5.22 (1H, m, CHOCO-CH₃)
 5.36 (24H, m, -CH=CH-)

【0014】 1-ドコサヘキサエノイル-2,3-ジアセチルグリセリン 【表3】

IR (ν cm⁻¹): 2960(m), 2870(m), 1465(m), 1380(m)

2925(m), 2850(m), 1470(m)

1760(s), 1220(s)

1660(m), 710(m)

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃, δ):

0.97 (3H, t, CH₃-CH₂-), 1.30 (2H, br, CH₂-CH₂-),

2.05 (6H, s, CH₃-C(=O)-), 2.12 (2H, m, CH₂-CH₂-CH=CH-),

2.32 (2H, m, =C-CH₂-CH=CH-), 2.82 (10H, m, =CH-CH₂-CH=),

4.22 (4H, m, CH₂OCO-DHA), 5.22 (1H, m, CHOCO-CH₃)

5.36 (12H, m, -CH=CH-)

【0015】実施例2

90%ドコサヘキサエン酸メチルエステル20.7g、
トリアセチン4.4gおよびカリウムエチラート0.4g
を用いて実施例1と同様にエステル交換を行い、淡褐色
透明の油状物17.5gを得た。上記油状物のうち1.5
gをシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、実施
例1と同様にしてヘキサン、ヘキサン-エーテルおよび
アセトンで順次段階溶出を行い、1,2,3-トリドコサ
ヘキサエノイルグリセリン0.90g、2-アセチル-
1,3-ジドコサヘキサエノイルグリセリン0.17gお
よび1-ドコサヘキサエノイル-2,3-ジアセチルグ
リセリン0.10gを得た。

【0016】実施例3

常法に従い精製イワシ油をエチルアルコールとエステル
交換し、次いで精製を行い、得られた87%ドコサヘキ
サエン酸エチルエステル10.8gとナトリウムメチラ
ート0.2gとを100ml4つ口フラスコに加えて、容
器を窒素で置換した。ゆっくり攪拌、加熱を開始し、滴
下ロートからトリアセチン2.2gを注入し、アスピレ
ータで減圧状態にした。反応液温の上昇に伴い、生成し
た酢酸エチルが留出するので、冷却器で凝縮し除去し
た。オイルバス温80~100℃、反応開始1時間後、
オイルバスを反応器から除き、内温を室温付近まで冷却
してから酢酸2mlを、次いで酢酸エチルおよび水を加え
て振盪、静置すると二層分離するので、上層の酢酸エチ
ル層を分取し、水20mlで3回洗浄後、溶媒を減圧下に
留去して9.0gの淡褐色、透明の油状物を得た。

【0017】次に、上記油状物1gを、シリカゲル(7
0~230メッシュ、メルク社製)50gをヘキサンに
懸濁し、ガラス管φ3cm×30cmに充填したカラムに付
した。ヘキサン200ml、ヘキサン-エーテル(95:
5v/v)1000mlで溶出させたフラクションを集
め、減圧下に溶媒を留去し、淡黄色透明の油状物0.2

5gを得た。この物質を薄層クロマトグラフィーにより
分離したところ、未反応ドコサヘキサエン酸エチルエ
テルであった。さらに、ヘキサン-エーテル(85:1
5)1000ml、ヘキサン-エーテル(70:30)6
00ml、アセトン200mlで溶出させた画分を集め、減
圧下に溶媒を留去し、淡褐色、透明な油状物0.76g
を得た。この油状物をメタノールとエステル交換し、脂
肪酸メチルエステルを調製した。この脂肪酸組成を調べ
るために、ガスクロマトグラフィー分析を行った。ドコ
サヘキサエン酸含量は86.7%であった。

【0018】ガスクロマトグラフィー(FID)の条件
カラム:10% SILAR 10C Chromosorb W-HP 80/100(ガ
スクロ工業株式会社)

φ3mm×1.5m ガラス製

温度:注入口240℃, オープン195℃

キャリアーガス:窒素 35ml/分

保持時間:約20分

【0019】実施例4

トリアセチン120gと46.5%ドコサヘキサエン酸
エチルエステル580g、ナトリウムメチラート10.
8gを用いて実施例3と同様にエステル交換を行い、後
処理を行って淡褐色、透明の油状物(i)522gを得
た。次に、上記油状物(i)のうち190gの薄膜遠心
式分子蒸留を行い、はじめに留出する未反応エチルエ
テル50.1gを除き、153.4gの油状物(ii)を得
た。この油状物(ii)の脂肪酸組成を確認するためにメ
タノールとエステル交換を行って脂肪酸メチルエステル
を調製し実施例3と同様にしてガスクロマトグラフィー
分析を行ったところ、ドコサヘキサエン酸含量は46.
3%であった。

【0020】実施例5

トリアセチン2.2g、35.1%ドコサヘキサエン酸メ
チルエステル10.6g、ナトリウムメチラート0.2g

を用いて実施例3と同様にエステル交換を行って、淡褐色、透明の油状物(i) 8.7 gを得た。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン-エーテル-アセトン系)に付し、未反応メチルエステルを除去し、*

* 油状物(ii) 6.1 gを得た。以下実施例3と同様にして分析を行ったところ、ドコサヘキサエン酸含量は35.4%であった。